

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

REC'D 22 DEC 2005



PCT

WIPO

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

(Kapitel II des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts PRO-013 PCT		WEITERES VORGEHEN siehe Formblatt PCT/IPEA/416	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE2004/002778	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 20.12.2004	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 20.12.2003	
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N33/569, G01N33/92			
Anmelder PROFOS AG et al.			
<p>1. Bei diesem Bericht handelt es sich um den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, der von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde nach Artikel 35 erstellt wurde und dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt wird.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p>3. Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; diese umfassen</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> (an den Anmelder und das Internationale Büro gesandt) insgesamt 2 Blätter; dabei handelt es sich um</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Blätter mit der Beschreibung, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit Berichtigungen, denen die Behörde zugestimmt hat (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsvorschriften).</p> <p><input type="checkbox"/> Blätter, die frühere Blätter ersetzen, die aber aus den in Feld Nr. 1, Punkt 4 und im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde eine Änderung enthalten, die über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgeht.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (nur an das Internationale Büro gesandt) insgesamt (bitte Art und Anzahl der/des elektronischen Datenträger(s) angeben), der/die ein Sequenzprotokoll und/oder die dazugehörigen Tabellen enthält/enhalten, nur in computerlesbarer Form, wie im Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll angegeben (siehe Abschnitt 802 der Verwaltungsvorschriften).</p>			
<p>4. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. I Grundlage des Bescheids</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. II Priorität</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>			
Datum der Einreichung des Antrags 19.10.2005		Datum der Fertigstellung dieses Berichts 21.12.2005	
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465		Bevollmächtigter Bediensteter Thumb, W Tel. +49 89 2399-7350 	

Feld Nr. I Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Sprache** beruht der Bericht auf der internationalen Anmeldung in der Sprache, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
- ☐ Der Bericht beruht auf einer Übersetzung aus der Originalsprache in die folgende Sprache, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für folgenden Zweck eingereicht worden ist:
- ☐ internationale Recherche (nach Regeln 12.3 und 23.1 b))
 - ☐ Veröffentlichung der internationalen Anmeldung (nach Regel 12.4)
 - ☐ internationale vorläufige Prüfung (nach Regeln 55.2 und/oder 55.3)
2. Hinsichtlich der **Bestandteile*** der internationalen Anmeldung beruht der Bericht auf (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt*):

Beschreibung, Seiten

1-30 in der ursprünglich eingereichten Fassung

das Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten

1-16 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-14 eingegangen am 19.10.2005 mit Schreiben vom 19.10.2005

Zeichnungen, Blätter

1/8-8/8 in der ursprünglich eingereichten Fassung

☐ einem Sequenzprotokoll und/oder etwaigen dazugehörigen Tabellen - siehe Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll

3. ☐ Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:
- ☐ Beschreibung: Seite
 - ☐ Ansprüche: Nr.
 - ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
 - ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
 - ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):
4. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der diesem Bericht beigelegten und nachstehend aufgelisteten Änderungen erstellt worden, da diese aus den im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2 c)).
- ☐ Beschreibung: Seite
 - ☐ Ansprüche: Nr.
 - ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
 - ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
 - ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):

* Wenn Punkt 4 zutrifft, können einige oder alle dieser Blätter mit der Bemerkung "ersetzt" versehen werden.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT
ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT**

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE2004/002778

Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35 (2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung
- | | |
|--------------------------------|---------------------|
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche 1-14 |
| | Nein: Ansprüche |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ja: Ansprüche 1-14 |
| | Nein: Ansprüche |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-14 |
| | Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen (Regel 70.7):

siehe Beiblatt

Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Die mit dem Schreiben vom 19.10.2005 eingereichten Ansprüche bringen keine Sachverhalte ein, die über den Offenbarungsgehalt der Anmeldung in ihrer ursprünglich eingereichten Form hinausgehen, und erfüllen damit die Erfordernisse von Artikel 34(2)(b) PCT.

2. Neuheit

Die Ansprüche 1-14 sind neu im Sinne von Artikel 33(2) PCT, da der Stand der Technik kein Verfahren zum Nachweis von Endotoxin offenbart, bei dem eine Probe enthaltende besagtes Endotoxin mit einer Oberfläche inkubiert wird, die Oberfläche mit Bakteriophagenprotein inkubiert wird, und die Bindung des Phagenproteins nachgewiesen wird.

Der Stand der Technik offenbart darüberhinaus auch kein Kit, das die Komponenten wie Anspruch 14 definiert enthält.

3. Erfinderische Tätigkeit

- 3.1 Anspruch 1 erfüllt die Erfordernisse von Artikel 33(3) PCT.

Dokument WO 03/000888 (D1) bezieht sich auf die Methoden zur Anreicherung und Aufreinigung von Bakterien oder bakteriellen Zellbestandteilen.

Dabei werden auf einer Festphase (e.g. magnetische Partikel) immobilisierte Bakteriophagenschwanzproteine, wie zum Beispiel p12 aus T4, oder P22 tailspike Protein verwendet (Seite 11, Zeile 10 - Seite 14, Zeile 1). Die Proteine können mit einem Strep- oder His-Tag modifiziert werden (Seite 12, Zeilen 14-34).

Anzureichernde Zellbestandteile beinhalten Endotoxine und Lipopolysaccharide (Seite 14, Zeilen 7-9).

Beispiel 16 zeigt die Bindung vom FITC-markiertem p12 Phagenprotein an E.coli.

Dieser Komplex wird mit biotinyliertem T4 Phagen inkubiert und an Streptavidinbeads gebunden (Beispiel 16, Seite 21).

Der Gegenstand von Anspruch 1 unterscheidet sich von der Lehre von D1 dadurch, dass er sich auf ein anderes Verfahren bezieht (Nachweis von Endotoxin vs. Aufreinigung von Bakterien oder Bestandteilen davon), einen weiteren Methodenschritt beinhaltet (Inkubation von gebundenem Endotoxin mit Bakteriophagenschwanzprotein), bzw. sich auf einen anderen Analyten und unterschiedliche Methodenschritte verglichen mit Beispiel 16 von D1 bezieht. Das Anspruch 1 zugrundeliegende objektive technische Problem kann daher darin gesehen werden, eine alternative Anwendung für die Endotoxin-Bakteriophagenschwanzprotein Interaktion zur Verfügung zu stellen.

Die Notwendigkeit eines Nachweises von Endotoxin in biologischen Proben ist ein im Stand der Technik allgemein bekanntes Problem, wie auch vom Anmelder in der Beschreibung unter Hinweise auf Richtlinien zur Arzneimittelsicherheit dargelegt wird. Allerdings wird diese Problem in D1, oder einem anderen Dokument des Recherchenberichts, nicht explizit angesprochen. D1 bezieht sich auf die Aufreinigung und Konzentrierung von Bakterien und deren Bestandteilen, und nicht auf den Nachweis davon in Proben. Die in D1 allgemein beschriebenen Methoden von D1 offenbaren Bindung von Bakterien oder Zellbestandteilen an eine Festphase, und zwar über die Bindung an immobilisiertes Bakteriophagenschwanzprotein. Diese Methoden beinhalten jedoch nicht den Schritt einer Detektion von gebundenem Endotoxin mittels Inkubation mit Bakteriophagenschwanzprotein (Sandwich Assay). Der einzige Sandwich Assay in D1 wird ist in Beispiel 16 offenbart. Darin werden allerdings E.coli Zellen detektiert, und nicht Endotoxin als solches. Darüberhinaus sind die Methodenschritte unterschiedlich. Es wird daher in D1 nicht offenbart oder nahegelegt, Endotoxin in einer Probe mittels eines Assays wie in Anspruch 1 offenbart nachzuweisen. Tatsächlich beziehen sich alle Beispiele in D1 auf Aufreinigung von Zellen, und nicht auf die Detektion von Endotoxin als solches, wie es zum Beispiel als Verunreinigung vorliegen würde, in einem Sandwich Assay. Die Bindung von immobilisiertem Endotoxin an Antikörper wird zum Beispiel in Dokument US 6,436,653 (D2) offenbart. Allerdings fehlt in D2 der Hinweis auf Bakteriophagenschwanzproteine. D2 bezieht sich ausserdem nicht auf den Nachweise von Endotoxin, sondern von dagegen gerichteter Moleküle.

Demnach wird die Methode von Anspruch 1 aus keinem der Dokumente des Standes der Technik, alleine oder in Kombination, nahegelegt.

Dagegen demonstriert die gegenwärtige Anmeldung in den Beispielen 16-18 den

Nachweis von Endotoxin in einer Probe mittels eines Sandwich Assays unter Verwendung von Bakteriophagenschwanzprotein als sekundäres Bindungsreagenz. Anspruch 1 und die davon abhängigen Ansprüche 2-13 erfüllen damit die Erfordernisse von Artikel 33(3) PCT.

- 3.2 Ein Kit gemäss Anspruch 14 wird im Stand der Technik ebenfalls nicht nahegelegt, da es im Lichte der oben dargelegten Argumentation nicht naheliegt, eine Festphase mit immobilisiertem Bakteriophagenschwanzprotein zusammen mit einem Referenzendotoxin sowie einem weiteren Bakteriophagenschwanzprotein oder einem Anti-Lipid A Antikörper in einem Kit zu kombinieren.
Anspruch 14 erfüllt damit ebenfalls die Erfordernisse von Artikel 33(3) PCT.

4. Ansprüche 1-14 sind gewerblich anwendbar und erfüllen damit die Erfordernisse von Artikel 33(4) PCT.

Zu Punkt VIII

Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

1. Der Ausdruck "Bakteriophagenschwanzprotein" ist unklar im Lichte des abhängigen Anspruchs 5, da besagter Ausdruck gemäss Anspruch 5 auch Hüllproteine beinhaltet, die keine "Schwanzproteine" sind. Die Bezeichnung "Bakteriophagenschwanzprotein" scheint daher nicht gemäss seiner allgemein verständlichen Bedeutung verwendet zu sein was zu Unklarheit im Sinne von Artikel 6 PCT führt. Darüber hinaus offenbart die Anmeldung kein Beispiel für ein an Endotoxin bindendes Hüllprotein, das in einem Verfahren gemäss der gegenwärtigen Anmeldung verwendet werden kann.
2. Anspruch 1 bezieht sich auf das in Kontakt bringen einer Probe enthaltend Endotoxin mit einer Oberfläche. Die von der Anmelderin zitierte Passage auf Seite 13 der Anmeldung offenbart das Vorhandensein von endotoxinbindenden Substanzen auf besagter Oberfläche.
Da diese endotoxinbindenden Substanzen in Anspruch 1 nicht erwähnt sind, erfüllt er

nicht die Erfordernisse von Artikel 6 PCT aufgrund der Fehlers eines essentiellen technischen Merkmals.

PCT/DE 2004/002778

19 Oktober, 2005

Anmelder: PROFOS AG

Unser Zeichen: PRO-013 PCT

Patentansprüche

1. Verfahren zum Nachweis von Endotoxin, umfassend die Schritte:
 - a) In Kontakt bringen einer Probe enthaltend Endotoxine mit einer Oberfläche, anschließend
 - b) Inkubieren von Bakteriophagenschwanzproteinen an die auf der Oberfläche immobilisierten Endotoxine, und
 - c) Nachweis der Bakteriophagenschwanzproteine mittels spektroskopischer Verfahren, ELISA, chemischer oder enzymatischer Nachweisreaktion von Endotoxinen oder abgespaltenen Endotoxinkomponenten, oder mittels Kapazitätsmessung.
2. Verfahren nach Anspruch 1, ferner umfassend nach Schritt b) und vor Schritt c) den zusätzlichen Schritt
 - b') Abtrennen der gebundenen Bakteriophagenschwanzproteine vom Endotoxin.
3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Oberfläche mit Bakteriophagenschwanzproteinen beschichtet ist.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Bakteriophagenschwanzprotein ein Protein der kurzen Bakteriophagenschwanzfaser oder ein Hüllprotein von Bakteriophagen ohne Schwanz ist.
5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei das Protein der kurzen Bakteriophagenschwanzfaser ausgewählt ist aus K3, T2, T4, Ox2, RB32-33, AR1, PP01 und RB69.
6. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, wobei das Bakteriophagenschwanzprotein eine Homologie auf Aminosäureebene von mindestens 60 % zum T4p12 Protein aufweist.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Bakteriophagenschwanzproteine modifiziert sind.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Bakteriophagenschwanzproteine mit enzymatisch aktiven Proteinen kovalent verbunden sind.
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Bakteriophagenschwanzprotein einen Strep-Tag oder einen His-Tag aufweist.
10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei der Tag eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO. 5, 6 oder 7 aufweist.
11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, wobei als Bakteriophagenschwanzprotein das p12-Protein des Phagen T4, K3, T2, Ox2, RB32-33, AR1, PP01 oder RB69 verwendet wird.
12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Ca^{2+} -Konzentration in der Inkubation 0,1 μM bis 10 mM und/oder die Mg^{2+} -Konzentration 0,1 μM bis 10 mM beträgt.
13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei markiertes Endotoxin aus der Bindung mit einem Bakteriophagenschwanzprotein verdrängt wird und das markierte Endotoxin anschließend nachgewiesen wird.
14. Ein Endotoxin-Nachweis-Kit, umfassend einen mit einer Endotoxin-bindenden Substanz beschichteten Träger, einen Behälter enthaltend ein Referenzendotoxin zur Messung einer Standardkurve, und einen Behälter mit mindestens einem Bakteriophagenschwanzprotein oder einem Anti-Lipid A Antikörper.